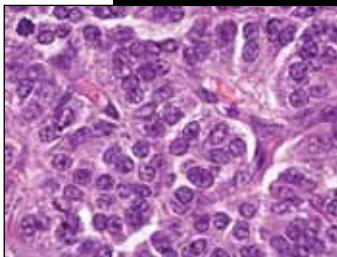


Mutaciones onco-génicas activan el EGFR y promueven la dimerización de su cinasa



Fernando López Casillas^a

El artículo de Shan y colaboradores (2012)¹ que hoy comentaremos tiene que ver con los mecanismos patogénicos del cáncer, una enfermedad de muchas caras con un común denominador: la proliferación incontrolada de una estirpe celular.

La proliferación celular es un proceso indispensable para la vida y esta sometida a un riguroso control homeostásico. En condiciones fisiológicas la división celular es promovida por una gran variedad de factores tróficos secretados por las células. Este control es indispensable para permitir que la división celular sólo ocurra cuando sea necesario, por ejemplo, durante el desarrollo embrionario, el mantenimiento de epitelios y endotelios, y la reparación de tejidos, entre muchos otros procesos. Cuando alguno de estos factores tróficos pierde su control fisiológico, la proliferación celular se vuelve patológica, como en el cáncer. De ahí que entender como funcionan estos factores sea vital para el desarrollo de terapias racionales y efectivas para las enfermedades oncológicas.

Uno de los factores tróficos celulares mejor estudiados es el factor de crecimiento epidérmico (EGF, *epidermal growth factor*), representativo de un grupo de factores mitogénicos, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF, *platelet derived growth factor*), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF, *fibroblast growth factor*), etc.

Dichos factores son polipéptidos secretados al exterior celular, que al encontrar un receptor específico en alguna célula vecina, su blanco o destinatario funcional, la incitan a dividirse. Esto se logra a través de una serie de reacciones bioquímicas que se denominan colectivamente “la vía de señalamiento del factor”. En el caso del EGF, esta vía se inicia cuando el factor se une por el exterior de la célula con su receptor específico, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, *epidermal growth factor receptor*) lo que ocasiona que 2 moléculas del receptor se asocien y formen un dímero. Esta dimerización propicia que al otro lado de la membrana plasmática las regiones cinasa del receptor también se asocien y se activen.

La dimerización fisiológica de las cinasas, inducida por la unión del EGF a la región extracelular del receptor, ocurre mediante el contacto de el lóbulo N de una cinasa con el lóbulo C de otra

^aInstituto de Fisiología Celular. UNAM. México, DF.
<http://www.ifc.unam.mx/researchers/lopez-casillas/es>
correo electrónico: fcasilla@ifc.unam.mx

Desde la trinchera de las ciencias básicas

En el número actual de la Revista tenemos el gusto de iniciar esta nueva sección con el propósito de reseñar descubrimientos y avances generados en las llamadas "ciencias básicas" que tengan impacto en la medicina, la cual, tal y como la conocemos y la practicamos hoy en día, sería imposible sin ellas: la fisiología, la bioquímica, la microbiología y todas las que de ahí han derivado, como la farmacología, la inmunología, la patología, etc.

El entendimiento de etiologías y mecanismos fisiopatológicos, así como las terapéuticas racionales, son posibles gracias al manantial de sabiduría aportado por dichas ciencias, y muchísimo del avance del conocimiento médico se debe a que la actividad en ellas jamás se detiene. No importa cuán distantes parezcan, los frutos de este trabajo ininterrumpido, tarde o temprano inciden en la práctica médica.

Por lo anterior, el Comité Editorial ha considerado pertinente incluir una sección cuyo tema central sean las ciencias básicas, la cual no tiene la inalcanzable pretensión de sustituir los cursos que se ofrecen en los primeros años de la carrera, sino que deberá considerarse como una ventana por la que el clínico podrá echar de vez en vez un vistazo a algún descubrimiento reciente y relevante de ciencia básica, que tenga algún efecto en la manera en como practicamos o practicaremos la medicina.

Recordemos que estos descubrimientos surgen de los lugares menos esperados y tienen efectos maravillosamente impredecibles. Por ejemplo, ¿quién iba a decir que Robert Koch, con su publicación de 1881, *Zur Untersuchung von Pathogenen Organismen (Sobre el examen de organismos patogénicos)*, fundaría el principio básico que ha dado lugar a la clonación? (Citado en Weiss, 2005)². En ese trabajo el gran microbiólogo alemán describió un método para preparar sobre placas de vidrio, usando mezclas de gelatina y nutrientes, un medio sólido para hacer crecer bacterias. Esto le permitió aislar cepas puras de microbios (el segundo de los celebres Postulados de Koch) pues sobre la superficie de estas "gelatinas" es posible sembrar microorganismos individuales y propagarlos como "colonias" puras, todas ellas provenientes de un solo individuo progenitor. Como se podrá apreciar, esta técnica sentó el concepto o principio fundamental para todas las metodologías de la clonación actual.

Ciento treinta y un años después, las ciencias básicas son más vigorosas, sorprendentes y generosas que nunca. A diario, miles de científicos producen conocimiento que sin duda contribuirá al bienestar de nuestros pacientes. Esperamos que con esta sección nos acompañen a disfrutar de la belleza de este campo del saber y el hacer humanos.

Fernando López Casillas

(figura 1). Una vez dimerizadas, la cinasa se activa y fosforila diversos sustratos proteicos que propagan por el interior celular la señal del EGF. Eventualmente, estas fosforilaciones harán que la célula duplique su genoma y entre en mitosis.

Como se podría anticipar, la actividad cinasa del EGFR es un paso crucial para la división celular mediada por EGF y las alteraciones en su actividad pueden causar una patología. En su trabajo, Shan y sus colegas estudiaron la "dinámica molecular" de algunas formas mutantes del EGFR que se presentan en diversos tipos de carcinomas que poseen una cinasa hiperactiva, y de ahí una capacidad prooncogénica.

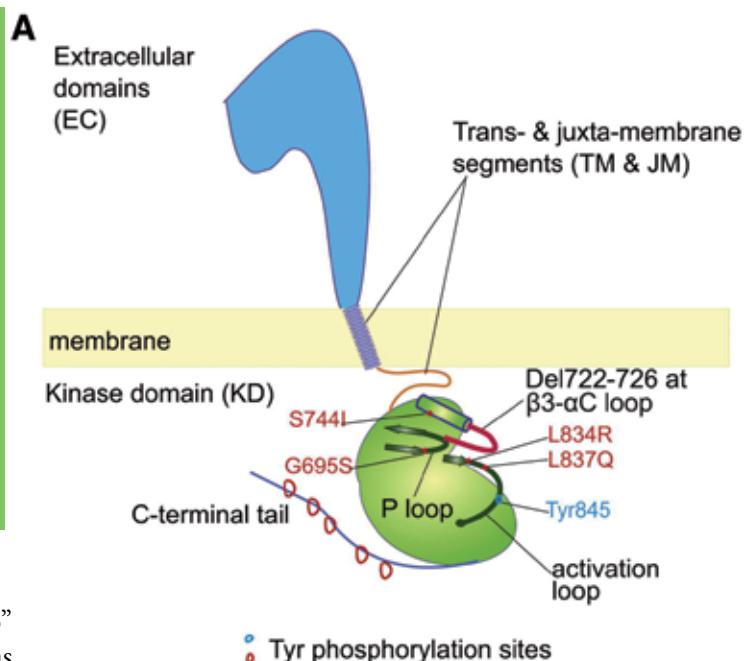
Los estudios de dinámica molecular son simulaciones hechas en computadora que, partiendo de una estructura cristalográfica previamente determinada y con base en reglas de interacción química, predicen los movimientos que cada uno de los átomos que la constituyen harían a lo largo del tiempo. Hacer la dinámica molecular de un polipéptido como la cinasa del EGFR es una tarea mayúscula, pues implica tomar como punto de partida la posición reportada en la estructura cristalográfica de cada uno de los átomos que forman los 330 aminoácidos de la cinasa y de ahí calcular todas las posiciones posibles en que se podrían reacomodar cada uno de esos aminoácidos.

Al hacer estos modelajes moleculares los aminoácidos no cambian su posición en la secuencia polipeptídica, sólo se predicen los posibles reacomodos de sus grupos funcionales, lo cual revela posibles variantes de la estructura terciaria de la proteína. Generalmente, estas variantes o alternativas conformacionales de la estructura se reflejan en cambios de la función de la proteína.

Hacer las simulaciones de una estructura proteica tridimensional es factible puesto que se conocen las reglas básicas de interacciones entre los grupos funcionales de la proteínas, los cuales, como se recordará del curso de bioquímica, son las fuerzas determinantes de su arreglo o plegamiento tridimensional. En la práctica esto requiere de poderosos programas y equipos de computo capaces de hacer esta abrumadora cantidad de cálculos y darnos una simulación en tiempo real de cómo la

Figura 1. Representación esquemática de la anatomía del EGFR

El EGFR es un polipéptido de 1022 aminoácidos que cruza la membrana plasmática. Su extremo amino reside en la región extracelular y adopta una estructura capaz de unir específicamente al EGF. La porción citoplasmática del receptor se pliega en una estructura que posee actividad de cinasa de proteínas, mediante la cual puede añadir grupos fosfato, provenientes del ATP, a ciertos residuos de tirosina en proteínas citosólicas participantes de su vía de señalamiento.



proteína “pulsaría”. Esta visión “en movimiento” de las estructuras tridimensionales de las proteínas complementa significativamente la información necesariamente estática de las estructuras deducidas por cristales analizados por refracción de rayos X.

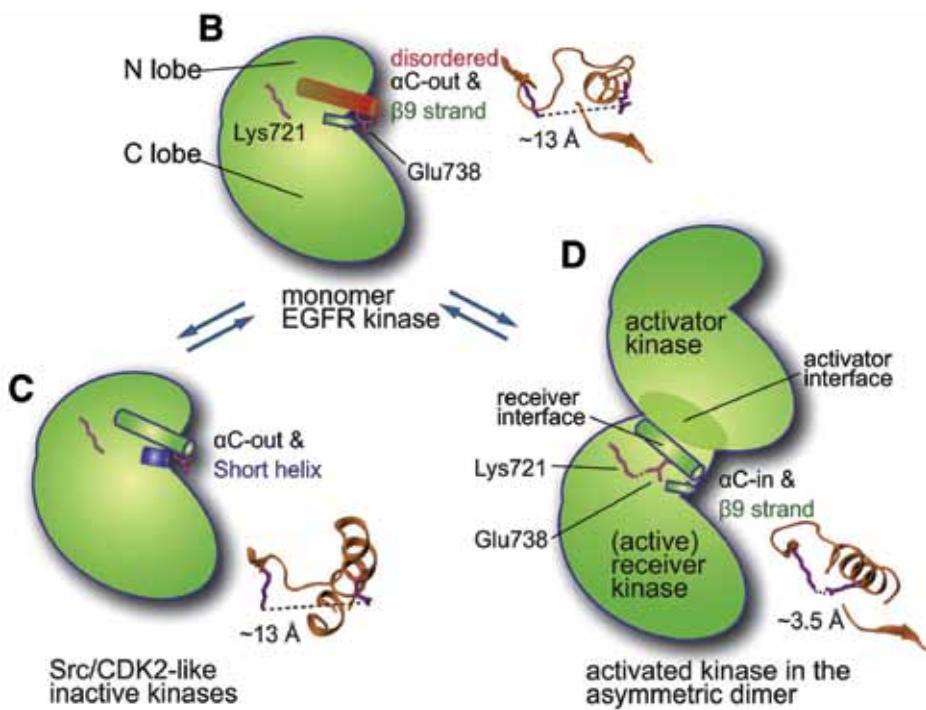
Usando esta metodología, Shan y colaboradores calcularon como el lapatinib y el gefitinib se unirían a las conformaciones activa e inactiva de la cinasa del EGFR. El lapatinib y el gefitinib son inhibidores de la cinasa usados en el tratamiento de ciertos tipos de cánceres pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, *non-small cell lung cancers*). Estas simulaciones les permitieron descubrir una conformación que no había sido observada anteriormente en los estudios de cristalografía de rayos X y que sin embargo, parece ser el estado en que la cinasa existe predominantemente.

En esta nueva variante conformacional, que estructuralmente tiene características intermedias entre la conformación activa y la inactiva de la cinasa, una zona del lóbulo N se encuentra “desordenada”. Esta zona es la que, cuando esta “ordenada”, hace contacto con el lóbulo C de otra cinasa en un dímero activo. De ahí que este “desordenamiento” del lóbulo N disminuya significativamente la probabilidad de formación de dímeros, ocasiona que en esta conformación la cinasa sea inactiva (**figura 2**).

Sorprendentemente, cuando una mutante del EGFR presente en carcinomas humanos y que tiene

cambiado la leucina de la posición 834 por una arginina fue sometida a los mismos estudios de dinámica molecular se hizo un descubrimiento muy importante: la conformación intermedia era menos frecuente y esto se debía a que la arginina mutante contrarrestaba el desarreglo de la región desordenada en el lóbulo N. Esto ocasionaba que en las simulaciones de dinámica molecular la cinasa mutante pasara más tiempo en la conformación activa. Esto llevó a los investigadores a una predicción inevitable: la mutante Leu834Arg debería ser más propensa a la dimerización y por lo tanto debería poseer mayor actividad enzimática. La verificación experimental de que la mutación Leu834Arg de la cinasa tiene estos efectos explica satisfactoriamente el potencial oncogénico de esta forma mutante del EGFR.

El trabajo de Shan y colaboradores es sobresaliente por varias razones. Por un lado, usando técnicas de vanguardia, descubre una nueva variante conformacional (“desordenada”) de la cinasa del EGFR, la cual es un intermediario normal en su paso de la forma inactiva a la activa. Por otro lado, explica cómo esta nueva conformación intermedia es afectada por el cambio del aminoácido Leu834Arg, no obstante que se encuentra distante de

Figura 2. Pasos de activación de la cinasa del EGFR

En su conformación inactiva, la cinasa del EGFR es monomérica. En su conformación activa, la cinasa es dimérica. Este dímero asimétrico se logra gracias a la interacción de dos superficies localizadas en el lóbulo N de la cinasa "receptora" y en el lóbulo C de la cinasa "activadora". La forma intermedia descubierta por Shan y colaboradores tiene la superficie receptora del lóbulo N desordenada. El cambio de una arginina en vez de la leucina 834 del receptor silvestre, no obstante su lejanía, contrarresta el desorden de esta superficie, lo que facilita la dimerización del receptor mutante.

Fuente: Shan Y et al (2012).

la región desordenada, lo que nos recuerda la importancia de los efectos alóstéricos en la estructura y función de una proteína.

Este trabajo también explica de forma importante cómo a nivel molecular este cambio de aminoácido incrementa la actividad basal de la cinasa y con ello fomenta la proliferación de las células que poseen esta mutante del EGFR. Sin embargo, desde el punto de vista clínico, quizás lo más sobresaliente sea lo que aún está por venir, es decir, la aplicación de este conocimiento para diseñar inhibidores de la cinasa con un nuevo mecanismo de acción, que en vez de impedir la entrada del trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*)

al sitio catalítico de la enzima (como el lapatinib y el gefitinib), estabilicen la conformación intermedia inactiva. En principio este nuevo tipo de inhibidores impediría el transito hacia una conformación capaz de dimerizar y con ello activarse. Esto proporcionaría otro recurso terapéutico para complementar y sinergizar los que actualmente están en uso contra el cáncer pulmonar del tipo NSCLC. ●

BIBLIOGRAFÍA

- Shan Y, Eastwood MP, Zhang X, et al. Oncogenic Mutations Counteract Intrinsic Disorder in the EGFR Kinase and Promote Receptor Dimerization. *Cell*. 2012;149:860-70.
- Weiss RA. Robert Koch: The Grandfather of Cloning? *Cell*. 2005;123:539-42.